

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Flaviancia Mouyabi

Úloha přirozených lymfoidních buněk při infekci virem chřipky

The role of innate lymphoid cells in influenza virus infection

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10. 8. 2017

Podpis:

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Jiřímu Hrdému, Ph.D. za pomoc při psaní této práce.

Abstrakt:

Přirozené lymfoidní buňky (ILC – innate lymphoid cell) představují nedávno objevenou skupinu buněk přirozené imunity. Nemají antigenně specifické receptory, ale mohou být aktivovány pomocí cytokinů podobně jako T lymfocyty. ILC hrají klíčovou roli v regulaci zánětu, opravě tkání, regulaci komenzálních bakterií, antiinfekční imunitě a v regulaci tkáňové homeostázi. Přítomnost myších a lidských ILC může být v plicích detekovatelná jak v průběhu chřipkové infekce, tak po ní, kdy se ILC podílejí na reparaci poškozeného plicního parenchymu. Ať už přímo, nebo nepřímo, ILC poskytují ochranu proti virovým infekcím sekrecí cytokinů a spoluprací s dalšími buňkami (např. T lymfocyty, makrofágy). Je tedy zřejmé, že plicní ILC jsou důležité při imunitních odpovědích a v tkáňové homeostázi, ale pro plné porozumění jejich úlohy budou zapotřebí další studie zabývající se tímto tématem. Cílem této bakalářské práce bylo charakterizovat tyto buňky, zaměřit se na jejich funkci v plicích a popsat jejich roli v průběhu chřipkové infekce.

Klíčová slova:

přirozené lymfoidní buňky, cytokiny, transkripční faktory, T lymfocyty, virus chřipky

Abstract:

Innate lymphoid cells (ILCs) are recently discovered group of innate immune cells. They do not have antigen-specific receptors but they can be activated by cytokines similarly to T lymphocytes. ILCs have a crucial role in the regulation of inflammation, tissue repair, containment of commensals, anti-infection immunity and regulation of tissue homeostasis. The presence of mouse and human ILCs can be detected in the lung during and after influenza virus infection when ILCs contribute to the restoration of damaged lung parenchyma. ILCs directly or indirectly provide protection against viral infections by secretion of various cytokines and co-operation with other cells (e.g. T cells, macrophages). Overall, lung ILCs are important in immune responses and tissue homeostasis, but further studies on this topic are needed to fully understand their role. The aim of this thesis was to specifically characterize these cells, focus on their function in the lung, and describe their role in the course of influenza virus infection.

Key words:

innate lymphoid cells, cytokines, transcriptional factors, T lymphocyte, influenza virus

Seznam zkratek:

AAM – alternatively activated macrophages
AHR – airway hyperreactivity
AMP – antimicrobial peptides and proteins
APC – antigen presenting cell
B lymfocyt/buňka – B lymphocyte/cell
BHR – bronchial hyperreactivity
CCL17 – chemokine (C-C motif) ligand 17
CD – cluster of differentiation
CHILP – common helper innate lymphoid precursor
CIITA – class II transactivator
CLP – common lymphoid progenitor
Csf2 – colony stimulating factor 2
DC – dendritic cell
DNA – deoxyribonucleic acid
dsRNA – double-stranded ribonucleic acid
Eomes – eomesodermin
GATA3 – GATA-binding protein 3
HAU – hemagglutination unit
IAV – influenza A virus
ICOS – inducible T-cell costimulator
ICOSL – ICOS ligand
Id2 – inhibitor of DNA binding 2
IFN- $\alpha/\beta/\gamma$ – interferon alfa/beta/gamma
Ig A/E – immunoglobulin A/E
Ih2 – innate helper 2
IL – interleukin
IL-7Ra – interleukin 7 receptor alfa (CD127)
ILC – innate lymphoid cell
iNKT – invariant natural killer T cell
iTreg – induced regulatory T cell
KO – knock-out
LT α 1 β 2 / LT α 3 – lymphotoxin alfa 1 beta 2 / lymphotoxin alfa 3
LTi – lymphoid tissue inducer
MHC I/ II – major histocompatibility complex class I / II
mRNA – messenger ribonucleic acid
NCR – natural cytotoxicity receptor
Nfil3 – nuclear factor interleukin 3
NK – natural killer
NKG2A – inhibitory NK cell receptor (CD94)
NKP – natural killer precursor
PFU – plaque-forming unit
PLZF – promyelocytic leukaemia zinc finger
RAG – recombination-activating gene
RNA – ribonucleic acid
ROR α – retinoid-related orphan receptor alfa
ROR γ t – retinoid-related orphan receptor gamma t
T lymfocyt/buňka – T lymphocyte/cell
TCF-1 – T cell factor 1
TGF- β – transforming growth factor beta
Th buňka – T helper cell
TNF – tumour necrosis factor
TOX – thymocyte selection-associated high mobility group box
TRAIL – tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
Treg buňka – regulatory T cell

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Přirozené lymfoidní buňky	1
2.1 Vývoj	2
2.2 Společné transkripční faktory	3
3. ILC první skupiny	5
3.1 NK buňky.....	5
3.2 ILC1	5
4. ILC druhé skupiny	6
4.1 ILC2	6
5. ILC třetí skupiny	7
5.1 L _{Ti} buňky	7
5.2 NCR ⁺ a NCR ⁻ ILC3	7
6. ILC a T lymfocyty	8
6.1 ILC1 a T lymfocyty	8
6.2 ILC2 a T lymfocyty	8
6.3 ILC3 a T lymfocyty	9
7. ILC v plicích a dýchacích cestách	9
7.1 ILC1 v respiračním systému	9
7.2 ILC2 v respiračním systému	10
7.3 ILC3 v respiračním systému	10
8 Virus chřipky a ILC	11
8.1 Charakteristika viru chřipky	11
8.2 Astma	12
8.3 Role ILC1 při infekci virem chřipky	13
8.4 Role ILC2 při infekci virem chřipky	15
8.5 Role ILC3 při infekci virem chřipky	16
9. Závěr	17
10. Použité zdroje.....	18

1. Úvod

Přirozené lymfoidní buňky řadíme mezi buňky přirozené (nespecifické, neadaptivní) imunity. Hrají podstatnou roli v imunitním systému, při vývoji a remodelaci tkání. Nedávný výzkum potvrdil, že ILC mají také důležitou efektorovou funkci během časně fáze imunitní odpovědi při infekci nebo zánětu. Na rozdíl od adaptivní imunity, která za normálních podmínek vyžaduje dny nebo týdny, aby plně dozrála, jsou ILC po aktivaci schopny odpovědět během několika minut až hodin.

V současné době se rozdělují do tří skupin. Do první skupiny (ILC1) se řadí NK buňky (NK - natural killer), které jsou studovány už od roku 1975. LT α i (lymphoid tissue inducer) buňky, které byly objeveny v roce 1997, se řadí do třetí skupiny (ILC3). Druhá skupina (ILC2) byla objevena teprve v roce 2010 nezávisle na sobě třemi různými výzkumnými skupinami, a to pomocí průtokové cytometrie a microarray analýzy. Ačkoliv jsou některé buněčné subpopulace (např. NK buňky) známy již delší dobu, teprve nedávno se začaly řadit do skupiny ILC.

V této práci bych se ráda věnovala jejich rozdělení, vývoji, funkci a následně zdokumentovala interakce mezi ILC a T lymfocyty, popřípadě jejich podobnosti a odlišnosti, neboť tyto buňky pocházejí se společného lymfoidního progenitoru (CLP – common lymphoid progenitor). Rovněž bych ze současných poznatků a výzkumů vytkla některé podobnosti a rozdíly lidských a myších ILC. V současné době pochází nejvíce informací získaných o ILC ze studií na experimentálních myších modelech, proto se o lidských ILC zmíním pouze okrajově a zaměřím se na ILC u myší. Na závěr popíšu možné role ILC v průběhu chřipkové infekce.

2. Přirozené lymfoidní buňky

ILC se, podobně jako i B a T lymfocyty, vyvíjejí z CLP, na rozdíl od nich však ILC postrádají antigenně specifické receptory (BCR - B cell receptor, TCR - T cell receptor), a proto ke svému vývoji nevyžadují geny aktivující rekombinaci (RAG - recombination activating gene) (Spits a Cupedo, 2012).

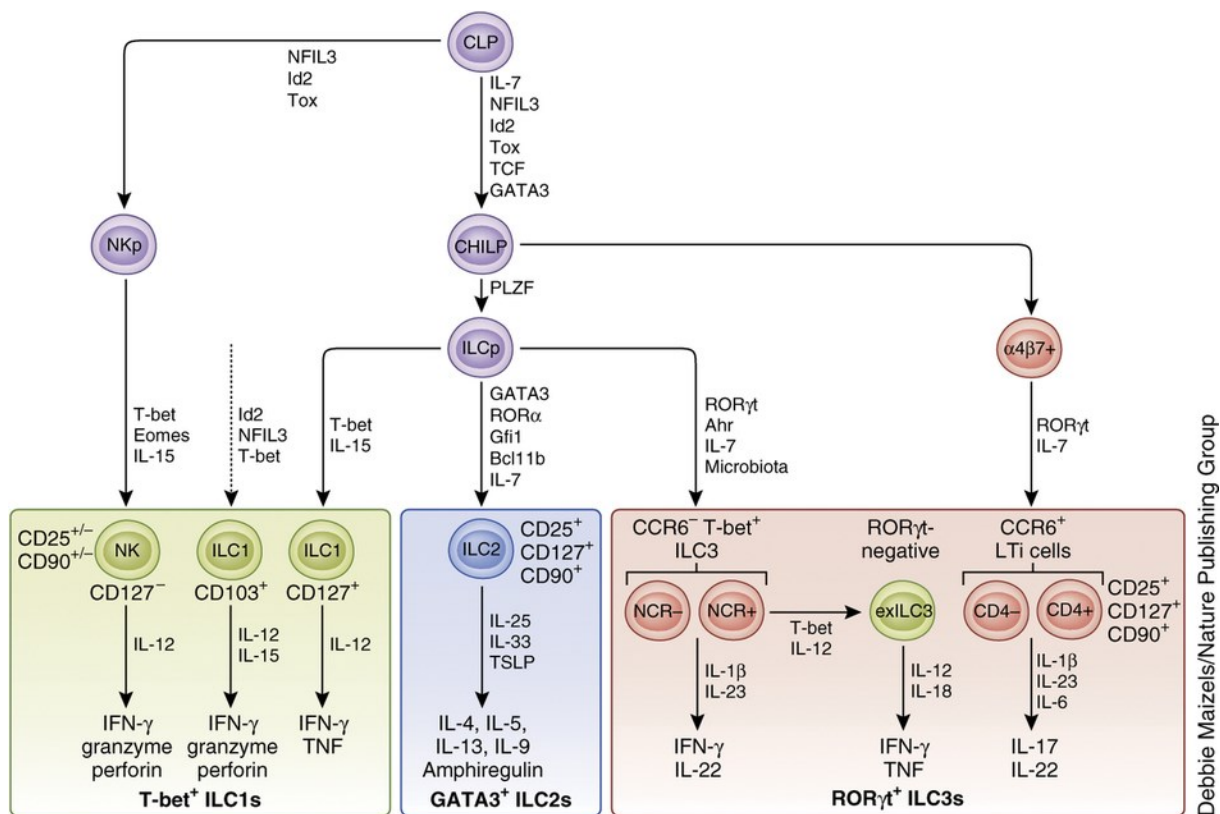
ILC exprimují mnoho transkripčních faktorů, povrchových znaků a dalších efektorových molekul, které jsou charakteristicky prezentovány jednotlivými subpopulacemi Th lymfocytů (Th - T helper). Na základě této podobnosti s Th lymfocyty a pro sjednocení nomenklatury navrhl v roce 2013 H. Spits se svými kolegy rozdělení do tří skupin. První skupina ILC1 zahrnuje NK buňky a necytotoxické ILC1, které produkují IFN- γ (interferon

gama) a jejich fenotyp závisí na transkripčním faktoru T-bet. Tato skupina produkuje cytokiny typické pro Th1 lymfocyty. Druhá skupina, označována jako ILC2, potřebuje pro svůj vývoj a funkce transkripční faktory ROR α (retinoid-related orphan receptor alfa) a GATA3 (GATA-binding protein 3) a sekretuje cytokiny charakteristické pro imunitní odpověď Th2. Vývoj třetí heterogenní skupiny ILC3 je podmíněn ROR γ t (retinoid-related orphan receptor gamma t). Tato skupina sekretuje cytokiny typické pro Th17 lymfocyty. ILC3 zahrnují několik fenotypicky rozdílných buněk. ILC3 mohou exprimovat přirozený cytotoxický receptor, pak se jedná o NCR⁺ ILC3, nebo mohou tuto molekulu také postrádat, a pak se jedná o NCR⁻ ILC3. Mezi ILC3 se dále řadí i LTi buňky (Spits et al., 2013). Rozdělení na ILC1, ILC2 a ILC3 není vždy přesné, neboť ILC jsou do jisté míry schopné plasticity. Například při zánětu mohou NCR⁻ ILC3 tvořit IFN- γ a NCR⁺ ILC3 se mohou přeměnit na ILC1, které produkují IFN- γ (Buonocore et al., 2010; Klose et al., 2013).

2.1 Vývoj

Všechny ILC se vyvíjejí z CLP v kostní dřeni. NK buňky vznikají z CLP přes NK buněčný prekurzor (NKP – NK precursor). CLP se také může dále diferencovat ve společný pomocný prekurzor ILC (CHILP – common helper innate lymphoid precursor), který tedy, až na NK buňky, dává vzniknout všem třem skupinám ILC. Transkripční faktory, které jsou exprimovány v CHILP, dělí heterogenní populaci buněk do dvou sekcí – na skupinu exprimující promyelocytický leukemický transkripční faktor (PLZF⁺ - promyelocytic leukaemia zinc finger) a na skupinu, která tento transkripční faktor neexprimuje (PLZF⁻). Ačkoliv se všechny další subpopulace ILC vyvíjí z PLZF⁺ CHILP, LTi buňky se vyvíjejí z PLZF⁻ CHILP. Příbuznost v rámci různých ILC subpopulací je tedy větší než jejich příbuznost k LTi nebo NK buňkám (Lim a McKenzie, 2015).

Kromě transkripčních faktorů jsou pro vývoj ILC potřeba také receptory s gama řetězcem. Cytokiny IL-2, -4, -7, -9, -15 a -21 jsou známy svojí schopností podpory diferenciaci, proliferace a přežívání lymfocytárních buněk. Pro vývoj ILC1 a NK buněk je nezbytný IL-15, pro vývoj ILC2 a ILC3 je nezbytný IL-7 (Spits a Di Santo, 2011). Maturované ILC potřebují navíc i další transkripční faktory, cytokiny a mikrobiální signály, o kterých bude pojednáno později.



Obrázek 1: Vývoj ILC (Sonnenberg a Artis, 2015)

2.2 Společné transkripční faktory

Transkripční faktory esenciální pro vznik prekurzorů ILC z CLP jsou exprimovány v různých stádiích a navzájem se pozitivně či negativně ovlivňují.

1.2.1 Id2 inhibitor transkripčních faktorů (Id2 - inhibitor of DNA binding 2)

Všechny skupiny ILC jsou svým vývojem závislé na inhibitoru transkripčních faktorů Id2. Id2 se váže na E-box proteinových transkripčních faktorů, jako je například E2A, E2-2 nebo HEB. Tvoří s nimi heterodimery, zabraňuje jim ve vazbě na DNA (deoxyribonucleic acid) a nepřímo brání transkripci genů nezbytných pro B a T lymfocyty.

CLP, které mají zvýšenou expresi Id2, postrádají potenciál vzniku B a T lymfocytů, což vede ke zvýšení několika různých subpopulací ILC. V případě nepřítomnosti transkripčních faktorů ze skupiny E-box mohou ILC vznikat i bez Id2. Předpoklad, že jsou ILC svým vývojem závislé na Id2, byl demonstrován na několika myších modelech. Nedostatek Id2 u nich vedl ke ztrátě všech ILC, a naopak vzniku B a T lymfocytů. Dá se tedy říct, že Id2 řídí vývoj ILC potlačením B a T buněčného potenciálu (Serafini et al., 2015).

2.2.2 *GATA vázající protein 3 (GATA-3 - GATA binding protein 3)*

Kromě nenahraditelné role ve vývoji T lymfocytů (Ting et al., 1996), udržování a fungování ILC2, je GATA-3 také významným regulátorem vývoje všech IL-7R α (interleukin 7 receptor alfa)⁺ ILC, což bylo demonstrováno na modelu s nedostatkem GATA-3 na úrovni vývoje ILC z CLP. Nedostatek GATA-3 u kondicovaných KO (knock-out) myši vedl k absenci IL-7R α ⁺ NK buněk, zatímco všechny IL-7R α ⁻ NK buňky nebyly nijak zvlášť ovlivněny. Defekt v lymfoidních orgánech vedoucí k tomu, že se nevyvinuly žádné lymfatické uzliny, značil, že GATA-3 reguluje také LT_i buňky. Ať už IL-7R α ⁺ buňky exprimovaly ROR γ t či nikoliv, i u nich byl zaznamenán nižší počet. GATA-3 se tak ukázal nepostradatelný pro vývoj ILC2 a T lymfocytů, ale ne pro vývoj B lymfocytů a NK buněk (Yagi et al., 2014).

2.2.3 *Notch signalizace*

Notch signalizace je evolučně konzervovaná signální cesta u mnohobuněčných organismů, která je mimo jiné také důležitá pro vývoj hematopoetických kmenových buněk. Závisí na interakci buňka-buňka pomocí receptorů skupiny Notch na jedné buňce a ligandů Notch na druhé. U obratlovců existují čtyři receptory a pět ligandů typu Notch. Tato signální dráha je podstatná pro umlčení B buněčných faktorů EBF1 a Pax5 během rané fáze vývoje, kdy podpoří vznik T lymfocytů a ILC. *In vitro* u CLP docházelo při absenci Notch ligandů ke vzniku B lymfocytů. Naopak v přítomnosti Notch ligandů docházelo ke vzniku T lymfocytů, ILC2 nebo ILC3. Pro vývoj NK buněk je tato dráha postradatelná. Notch signalizace paralelně s GATA-3 umožňuje vývoj ILC a T lymfocytů na úkor B lymfocytů (Lim a McKenzie, 2015).

2.2.4 *Transkripční faktor TOX (TOX - Thymocyte selection-associated high mobility group box protein)*

TOX s DNA vazebnou doménou je potřeba například pro vývoj T lymfocytů, NK a LT_i buněk. Později se zjistilo, že ovlivňuje také vývoj ILC. Deficit tohoto transkripčního faktoru se projevil redukcí CHILP, ale i maturovaných ILC (Seehus et al., 2015).

2.2.5 *Transkripční faktor TCF-1 (TCF-1 - T-cell factor 1)*

TCF-1 je důležitý transkripční faktor uplatňující se v časně diferenciaci T lymfocytů (Weber et al., 2011). Nedostatek TCF-1 ovlivňuje ILC. Stejně jako u vývoje T lymfocytů se TCF-1 reguluje signální drahou Notch a během vývoje ILC zvyšuje expresi GATA-3 a IL-7 (Held et al., 2003; Mielke et al., 2013).

2.2.6 Transkripční faktor Nfil3 (Nfil3 - Nuclear factor interleukin-3)

Exprese Nfil3 je iniciována signalizací IL-7, která je rovněž velmi důležitá pro vývoj ILC. Nfil3 může být jedním z faktorů, který ovlivňuje TOX a Id2 (Xu et al., 2015; Yu et al., 2014). Tento transkripční faktor se ukázal jako nezbytný pro diferenciaci NK buněk (Kamizono et al., 2009). Později se také potvrdilo jeho uplatnění při diferenciaci různých subpopulací ILC (Geiger et al., 2014; Seillet et al., 2014). Nfil3 se exprimuje a působí ve stádiu progenitoru společného pro ILC i NK buňky (Geiger et al., 2014). U myši nedostatek Nfil3 negativně ovlivnil přechod z CLP na CHILP, ale pro vývoj maturovaných ILC se pravděpodobně dá postrádat (Xu et al., 2015).

3. ILC první skupiny

3.1 NK buňky

NK buňky se vyskytují v lymfatických uzlinách, kostní dřeni, brzlíku, slezině nebo v krevním oběhu, ale jsou přítomny i v jiných orgánech. Jejich vývoj závisí na T-bet a Eomes. NK buňky mají různé zánětlivé, antibakteriální či antivirové účinky, jimiž ovlivňují imunitu. Produkují IFN- γ a TNF- α (TNF – faktor nekrotizující nádory) a jiné regulační cytokiny jako reakci na cytokiny IL-12, IL-15 a IL-18. Na svém povrchu mají mnoho aktivačních a inhibičních receptorů. Aktivace těchto buněk, jež jsou známé svojí cytotoxickou aktivitou, může zapříčinit následné uvolnění perforinu a granzymu, které například brání růstu nádorů. U jejich funkce lze pozorovat jistou analogii k cytotoxickým T lymfocytům (Fuchs, 2016).

3.2 ILC1

ILC1a NK buňky spojuje produkce IFN- γ , avšak ILC1 mají menší cytotoxický potenciál. ILC1 exprimují mnoho povrchových znaků a mají různé funkce. Vyskytují se výhradně v tkáních (střevo, játra, slinné žlázy a další nelymfoidní orgány) a necirkulují v krvi jako NK buňky. Pro jejich vývoj je nepostradatelný T-bet (Fuchs, 2016).

4. ILC druhé skupiny

4.1 ILC2

První objevená skupina nazývaná NH buňky (NH - natural helper) produkuje velké množství IL-5 a IL-13 po stimulaci samotným IL-33 nebo kombinací IL-2 a IL-25 (Moro et al., 2010). Další skupina pojmenována nuocyty sekretuje IL-13 jako odpověď na IL-25 a IL-33 (Neill et al., 2010). Další podobné buňky Ih2 (innate helper 2) exprimují rovněž IL-13 nebo IL-4 (Price et al., 2010).

Nejdůležitějším rysem ILC2 je tak produkce IL-5 a IL-13 jako odpověď na stimulaci cytokiny IL-25 nebo IL-33. ILC2 tak například mohou hrát roli u alergických onemocnění a patofyziologii astmatu. Cytokiny IL-33 a IL-25 se uvolňují z epiteliálních, endoteliálních a dalších imunitních buněk během buněčného poškození nebo po vystavení alergenu a ovlivňují efektorové funkce ILC2, které se liší podle umístění v orgánech a tkáních (Kabata et al., 2015). Mimo jiné jsou ILC2 schopny přímo exprimovat MHC II (MHC – major histocompatibility complex) a interagovat se specifickými Th2 lymfocyty během imunitní odpovědi 2. typu. Crosstalk mezi těmito buňkami přispívá ke vzájemnému ovlivňování, expanzi a tvorbě cytokinů. IL-2 produkovaný T lymfocyty podporuje proliferaci a sekreci IL-13 u ILC2. Další signál pro proliferaci T lymfocytů poskytují kostimulační molekuly (CD80 a CD86) na ILC2 (Oliphant et al., 2014).

Kromě IL-5 a IL-13 sekretují ILC2 také IL-6, IL-9 a amfiredulin. IL-6 v kombinaci s IL-5 podporuje tvorbu IgA (immunoglobulin A) (Moro et al., 2010). ILC2 autokrinní produkcí IL-9 podporuje vlastní přežití. IL-9 se také podílí na opravě plicní tkáně (Turner et al., 2013). Amfiredulin se účastní obnovy poškozené epiteliální bariéry po chřipkové infekci (Monticelli et al., 2011).

5. ILC třetí skupiny

5.1 LT α buňky

LT α buňky se objevují při zárodečném vývoji v primitivních lymfoidních orgánech. Ukázalo se, že geny pro Id2 a ROR γ t jsou zásadní pro jejich vznik a tím i následný vývoj lymfatických uzlin a Peyerových plátů, bez nichž se tyto sekundární lymfoidní orgány nevyvinou. (Yokota et al., 1999; Eberl et al., 2004). LT α buňky na svém povrchu exprimují LT α 1 β 2 (lymfotoxin alfa 1 beta 2), jehož navázáním na lymfotoxin beta receptoru mezenchymálních buněk dojde k produkci různých chemokinů a adhezních molekul nezbytných pro lymfoidní organogenezi (Ngo et al., 1999). Mohou se diferencovat v NK buňky, folikulární buňky nebo antigen prezentující buňky (APC – antigen-presenting cell) (Mebius et al., 1997).

Buňky s LT α fenotypem přetrvávají i postnatálně a účastní se obnovy sekundárních lymfatických orgánů po virové infekci (Scandella et al., 2008). Tyto buňky mohou být také nalezeny u dospělých jedinců ve střevě a slezině, kde mohou produkovat IL-17 a IL-22 (Satohtakayama et al., 2008; Takatori et al., 2009).

5.2 NCR⁺ a NCR⁻ ILC3

ILC3 se nachází především ve slizniční tkáni. Produkují cytokiny, které regulují slizniční homeostázi a antibakteriální obranu. ILC3 jsou velkými zdroji IL-22, vyvolanými IL-23. IL-22 má význam v ochraně epitelálních buněk před bakteriálními infekcemi, v opravě tkáně, v produkci antimikrobiálních peptidů (AMP – antimicrobial peptides and proteins) a v podpoře proliferace epitelálních buněk. AMP jsou peptidy a proteiny se širokou antimikrobiální aktivitou. Uplatňují se v první linii obrany proti bakteriím, virům a houbám a zabíjí je vazbou na jejich membránu či lyzí (Zhang a Gallo, 2016). ILC3 jsou schopny kromě IL-22 sekretovat také IFN- γ a IL-17, čímž mohou za určitých okolností přispívat k progresi zánětlivých onemocnění (Buonocore et al., 2010).

6. ILC a T lymfocyty

T lymfocyty patří, stejně jako ILC, do lymfoidní linie. Vyvíjejí se z CLP, ale na rozdíl od ILC mají T lymfocyty antigenně specifické receptory. (Spits a Cupedo, 2012) Ačkoliv ILC reprezentují přirozenou a T lymfocyty specifickou imunitu, je možné pozorovat jistou analogii mezi ILC a Th lymfocyty, např. podobné požadavky na vývoj, transkripční regulace a sekrece stejných cytokinů (Spits et al., 2013). ILC jsou také schopny modulovat přímo nebo nepřímo adaptivní imunitu přes T lymfocyty (Rigas et al., 2017).

6.1 ILC1 a T lymfocyty

NK mohou přímo i nepřímo potlačit nebo podpořit T lymfocyty v různých stádiích jejich vývoje a ovlivnit tak jejich imunitní odpovědi. Zralé DC migrující do lymfatických uzlin, kam navádí NK buňky, které tam sekretují IFN γ , čímž způsobí diferenciaci naivních CD4⁺ T lymfocytů v Th1 lymfocyty (Martin-Fontecha et al., 2004). NK buňky také zvyšují křížovou prezentaci DC. DC prezentují CD8⁺ T lymfocytům antigeny B lymfocytů, které zabily NK buňky (Iyoda et al., 2002). Schuster et al. popsali, že NK buňky exprimující ligand TRAIL (TRAIL – tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) zabíjí aktivované CD4⁺ T lymfocyty během virové infekce, aby zabránily vývoji autoimunity (Schuster et al., 2014). TRAIL je exprimován i ILC1, což značí, že může mít podobnou funkci i u nich (Waggoner et al., 2013; Seillet et al., 2016). Buňky, které jsou infikované nebo maligní, snižují expresi MHC I molekul, aby si jich nevšimly CD8⁺ T lymfocyty. NK buňky mají receptory pro MHC I, čímž jsou schopny rozpoznat vlastní a cizí antigeny. Buňky s abnormálně málo MHC I bývají rozpoznávány a cytotoxicky zničeny NK buňkami (Lee et al., 2014; Huang et al., 2014).

6.2 ILC2 a T lymfocyty

ILC2 a T lymfocyty se často ovlivňují navzájem. Aktivované T lymfocyty produkují IL-2, který vede k proliferaci ILC2 a jejich sekreci cytokinu IL-5 a IL-13. IL-5 a IL-13 navodí polarizaci Th2 lymfocytů. ILC2 mohou rovněž zastávat funkci APC. Na svém povrchu mají mnoho MHC II, kterými prezentují antigen CD4⁺ T lymfocytů. Setkání s antigenem se řídí a zvyšuje odpověď Th2 lymfocytů (Mirchandani et al., 2014). Nedávno se také zjistilo, že indukované Treg (iTreg - induced regulatory T cell) mohou potlačit ILC2 v sekreci IL-5 a IL-13 přímým kontaktem kostimulační molekuly ICOS (ICOS - inducible T-cell costimulator) na

ILC2 a jeho ligandu ICOSL (ICOSL - ICOS ligand) na iTreg, spolu s tlumivými cytokiny IL-10 a TGF- β (Rigas et al., 2017).

6.3 ILC3 a T lymfocyty

ILC3 po stimulaci IL-1 β (interleukin-1 beta) slouží jako APC, neboť začnou exprimovat MHC II a kostimulační molekuly a podpoří proliferaci CD4⁺ T lymfocytů (von Burg et al., 2014). Střevní mikrobiota řídí makrofágy k produkci cytokinu Csf2 (Csf2 - colony stimulating factor 2). Stimulace cytokinem Csf2 vede k navýšení počtu makrofágů a DC, které začnou produkovat regulační faktory kyseliny retinovou a IL-10, pomocí nichž řídí homeostazi Treg (Mortha et al., 2014). LT α buňky jsou rovněž nezbytné pro udržování paměťových T lymfocytů sekrecí OX40 a CD30 molekul (Gaspal et al., 2005).

7. ILC v plicích a dýchacích cestách

ILC jsou již několik let studovány v různých tkáních, avšak současný výzkum dýchacího systému se zaměřuje především na ILC2. Jedna studie popisuje NCR⁻ ILC3 v lidské rakovině tkáni v plicích, kde mohou přispívat k ochraně nádoru (Carrega et al., 2015). Nedávná práce poprvé prokázala kromě ILC2 také přítomnost ILC1, NCR⁺ ILC3 a NCR⁻ ILC3 v lidské plicní tkáni při zánětlivých podmínkách, funkce těchto ILC subpopulací zůstává zatím neobjasněna (De Grove et al., 2016).

7.1 ILC1 v respiračním systému

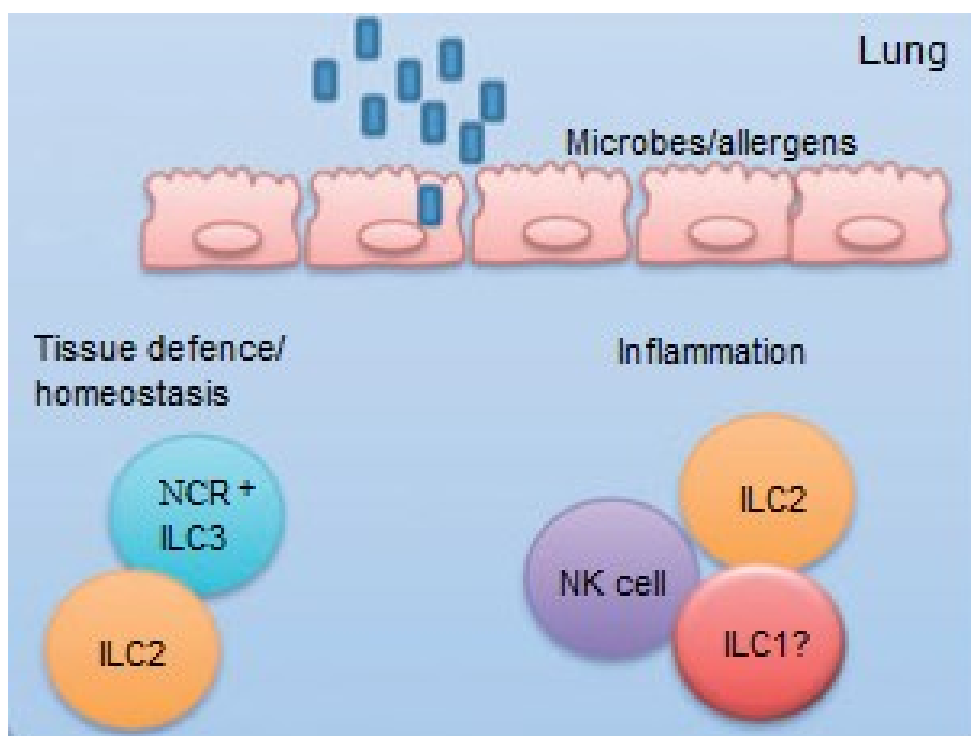
Zastoupení NK buněk se v plicích pohybuje okolo 10 % v porovnání s ostatními tkáněmi. Zdá se, že NK buňky přicházejí z periferní krve do plic až v době infekce, takže u myši nejspíš vývoj a maturace rezidentních plicních NK buněk neprobíhá. Také se ukázalo, že jejich cytotoxická vlastnost je redukována oproti těm, které se vyskytují například v kostí dřeni nebo slezině. Jedno z možných vysvětlení může být fakt, že plicní NK buňky mají větší počet inhibičních receptorů NKG2A a potřebují větší prahovou hranici pro aktivaci (Wang et al., 2012). Dalším vysvětlením jejich snížených funkčních vlastností může být jejich regulace prostřednictvím alveolárních makrofágů sekretujících imunosupresivní cytokiny jako jsou IL-10, TGF- β a prostaglandin (Lauzon a Lemaire, 1994; Junqueira-Kipnis et al., 2005).

7.2 ILC2 v respiračním systému

ILC2 se mohou podílet na imunopatologii dýchacích cest např. v hyperreaktivitě dýchacích cest (AHR – airway hyperreactivity) (Barlow et al., 2012; Bartemes et al., 2012). Při infekci virem chřipky A (IAV – influenza A virus) jsou ILC2 důležité pro obnovu poškozené tkáně v plicích. ILC2 po stimulaci IL-13 uvolněného z makrofágů sekretují růstový epidermální faktor amfíregulin, který obnovuje integritu epiteliálních buněk a funkci plic (Monticelli et al., 2011). Zvýšené odpovědi ILC2 u chronických plicních zánětů jsou pozorovány u mnoha alergických nemocí, například v periferní krvi jedinců s astmatem (Bartemes et al., 2014) nebo v tekutině bronchoalveolární laváže u jedinců s idiopatickou plicní fibrózou (Bartemes et al., 2014; Hams et al., 2014). Narušení regulace efektorových funkcí ILC2 v pokusech na myších přispívala k zánětu. ILC2 se podílí na chronickém plicním zánětu více způsoby: 1) Produkci IL-5, který podporuje plicní zánět směřováním eozinofilů do plic. 2) Sekrecí IL-13 narušuje funkci plic u myší navýšením kontrakcí hladkých svalů dýchacích cest a zvýšením produkce hlenu. 3) Polarizováním makrofágů na alternativně aktivované makrofágy, o nichž bude pojednáno později 4) Depozicí kolagenu. 5) Zvýšením Th2 buněčných odpovědí přímo interakcí MHC II s CD4+ T lymfocyty, nebo nepřímo přes IL-13 stimulovanou migraci DC do plic, kde DC spustí diferenciaci CD4+T lymfocytů na Th2 lymfocyty (Martinez-Gonzalez et al., 2015).

7.3 ILC3 v respiračním systému

O plicních ROR γ t⁺ ILC3 existuje jen velmi málo informací. Jeden článek označil IL-22 za negativní regulátor experimentálního zánětu dýchacích cest u astmatu. Léčba IL-22 před vystavením alergenu dokázala ochránit před rozvojem zánětu. Po přidání IL-22 se zvýšil jeho pozitivní efekt tím, že došlo k inhibici produkce cytokinu buněk plicního epitelu CCL17 stimulovaný IL-13, což omezilo rekrutování Th2 lymfocytů do plic. V tomto modelu byl IL-22 tvořen převážně ROR γ t⁺ ILC3 (Taube et al., 2011).



Obrázek 2: Funkce ILC v plicích (Björkström et al., 2013)

NCR⁺ ILC, které produkují IL-22, v plicích ochraňují tkáň. Plicní ILC2 také ochraňují tkáň, ale zároveň produkují cytokiny 2. typu, které vedou ke vzniku zánětu. NK buňky jsou důležité v plicních virových infekcích, kdy přispívají k poškození tkáně a zánětu (včetně astmatu).

8 Virus chřipky a ILC

8.1 Charakteristika viru chřipky

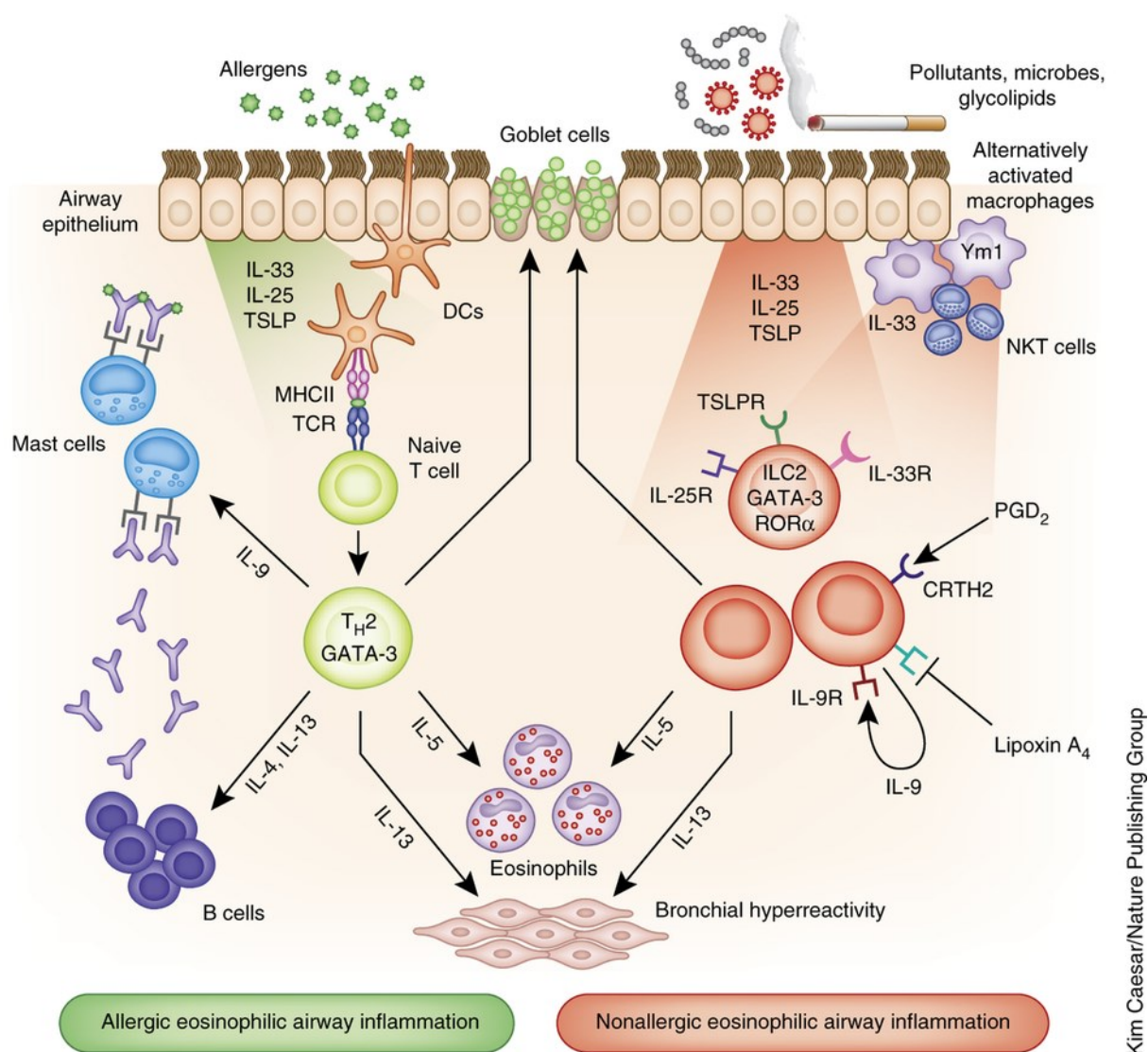
Virus chřipky patří mezi RNA viry řadící se do čeledi Orthomyxoviridae. V této čeledi se rozlišují rody Influenza virus A, Influenza virus B, Influenza virus C, Isavirus, Thogotovirus a Quarantavirus. Nejčastější viry způsobující chřipku jsou typu A a B. Mezi hostitele viru chřipky typu A způsobujícího pandemie patří kromě člověka i další savci a ptáci. Další typy jsou méně nebezpečné a zdravý jedinec jimi onemocní jen jednou za život. Typ A se dále dělí na jednotlivé subtypy označené podle povrchových glykoproteinů kódovaných virem – hemagglutininem (zkratka H) a neuraminidázou (zkratka N), které ovlivňují symptomy po nákaze. Existuje 16 subtypů H a 9 subtypů N. Segmentovaný genom viru umožňuje neustálé evoluční antigenní změny během replikačního procesu, které jsou důležité pro porozumění často nepředvídatelných chřipkových symptomů a patogenезi nových typů. Každý nově nalezený izolát viru chřipky dostane označení podle typu viru/geografického původu/čísla izolátu/roku izolace/subtypu viru (World Health Organization, 2014).

8.2 Astma

Astma existuje ve dvou formách – alergická (atopická) a nealergická . Alergická forma je více častá, ačkoliv u obou těchto forem se dají pozorovat podobné symptomy (Romanet-Manent et al., 2002). U alergických onemocnění je eozinofilie charakteristickým rysem, kdy způsobí zhoršení astmatu zvýšenou produkci hleny a AHR, u IAV infekce však jejich funkce není přesně známa (Gorski et al., 2013) .

Virus chřipky je jedním ze spouštěčů astmatu. Vyvolává Th1 imunitní odpověď s velkou produkcí IFN- γ , následkem čehož se aktivují DC. DC aktivované IFN- γ překvapivě později vyvolávají Th2 imunitní odpověď, což má za následek zesílení alergenní odpovědi. IAV tak současně podporuje Th1 a Th2 imunitní odpověď (Dahl et al., 2004).

Makrofágy v plicích se běžně dělí, podle jejich aktivace, na dva subtypy – M1 a M2, nicméně toto rozdělení úplně neodpovídá jejich rozdílnému fenotypu a funkci. M1 buňky se aktivují klasickou cestou přes IFN- γ a/nebo lipopolysacharid a spouštějí zánětlivou reakci při odpovědi na intracelulární patogeny. Zatímco M2 buňky (AAM – alternatively activated macrophages) se polarizují alternativní cestou přes cytokiny IL-4 a IL-13 a účastní se fagocytózy cizích patogenů a apoptických buněk. ILC2 sekrecí IL-13 aktivuje AAM. AAM následně produkují protizánětlivé cytokiny a podílí se na ukončení zánětu a tkáňové remodelaci v různých stádiích astmatu (Jiang a Zhu, 2016).



Obrázek 3: Podobné role Th2 a ILC2 buněk u dvou forem eozinofilního astmatu (Lambrecht a Hammad, 2015)

Nalevo atopické astma. Eozinofilní zánět dýchacích cest a bronchiální hyperreaktivita (BHR – bronchial hyperreactivity) jsou řízeny Th2 lymfocyty, které jsou stimulovány DC, aby produkovaly IL-5, IL-13 a IL-4, což později vede k syntéze IgE B lymfocyty. Napravo je neatopické astma, které je nezávislé na adaptivní imunitě. ILC2 tvorbou IL-5 a IL-13 způsobují eozinofilii a BHR. Neatopické formy astmatu se neúčastní žádný specifický alergen a ILC2 v tomto kontextu neprodukuje IL-4, tato forma není asociována s IgE.

8.3 Role ILC1 při infekci virem chřipky

ILC1 stejně jako NK buňky, produkují IFN- γ , vedle něhož jsou IFN- α (interferon alfa) a IFN- β (interferon beta) další klíčové cytokiny hostitelské imunity bojující proti virovým infekcím. Přímou aktivitou indukují proteiny a enzymy, které inhibují virovou replikaci poškozením specifických virových RNA a proteinů. IFN- γ může rovněž inhibovat replikaci virové RNA. Nebo může nepřímou aktivitou například zvýšit regulaci MHC molekul (Karupiah et al., 1993; Takei et al., 2000). Exprese MHC II stimulovaná IFN- γ vyžaduje Jak/ Stat signalizaci a transkripční koaktivátor CIITA (CIITA – class II transactivator) (Muhlethaler-

Mottet et al., 1998). Nedávno se také zjistilo, že během IAV infekce IFN- γ negativně reguluje expresi IL-7R na povrchu CD8+ T lymfocytů. Tento proces vede ke smrti T lymfocytů, čímž se později omezuje počet prekurzorových paměťových buněk (Prabhu et al., 2013). Virus chřipky si vyvinul početné mechanismy obrany proti IFN- γ hostitelské imunity. Jedním z nich může být virem kódovaný nestrukturní protein NS1 (NS1 – non-structural protein 1), který váže dsRNA (double-stranded ribonucleic acid) a tvoří dimery, a jehož funkcí je inhibice mechanismů hostitelských antivirových odpovědí. IFN- γ je však sám o sobě v boji proti viru chřipky neúspěšný (Bergmann et al., 2000).

V přirozené imunitě NK buňky ničí buňky infikované virem cytotoxickou aktivitou regulovanou dvěma mechanismy – inhibicí a aktivací. K inhibici dojde interakcí inhibičního NK buněčného receptoru s proteiny MHC I. Aktivace je dosažena aktivací NK buněčných receptorů rozpoznávajících virové proteiny v případě virových infekcí (Achdout et al., 2008).

Studie *in vitro* ukázaly, že různé virové proteiny hemagglutininu interagují se zbytky kyseliny sialové na NKp46 (NCR1), čímž specificky rozpoznávají infikované buňky, což vede k jejich zničení (Arnon et al., 2001; Ofer et al., 2001). Stejnou interakci *in vivo* prokázal Gazit et al. použitím myších NCR1, podobné lidským NKp46. Myši byly vystaveny viru chřipky 2×10^7 plaque-forming unit (PFU)¹. Myši s nefunkčním NCR1 zemřely, naproti tomu cca 67 % myši s funkčním receptorem přežilo. Sledovali také počet NK buněk v různých orgánech a druhý den po infekci zaznamenali významný úbytek NK buněk v krvi, který odpovídal stejnému nárůstu v plicích. Později se množství v krvi vrátilo do normálního stavu, který byl před infekcí, zatímco v plicích pokračoval nárůst. Lehký nárůst byl zaznamenán také v kostní dřeni a slezině. Jelikož NK buňky vznikají v kostní dřeni, autoři došli k závěru, že k proliferaci těchto buněk dochází třetí den po infekci, kdy opouští kostní dřeň a míří do plic. Jejich zjištění dokazuje, že v časně fázi po napadení virem migrují NK buňky přímo z krve do místa infekce, aby byly později ve velkém množství připraveny k boji. Nicméně toto nahromadění nenechává ostatní orgány nechráněné (Gazit et al., 2006).

Další výzkum prokázal, že výsledný vliv NK buněk se může změnit na základě dávky viru, přičemž ve většině studií se používala střední dávka viru, při které NK buňky přispívaly k redukci morbidity a mortality. Zhou et al. objevili, že s vysokou dávkou 5 hemagglutination unit (HAU)² přispívají NK buňky místo protektivního působení naopak k morbiditě a mortalitě.

¹ PFU – určuje počet lyzovaných virových částic, které tvoří plaky

² HAU – určuje nejmenší množství viru, které je ještě schopno způsobit aglutinaci červených krvinek

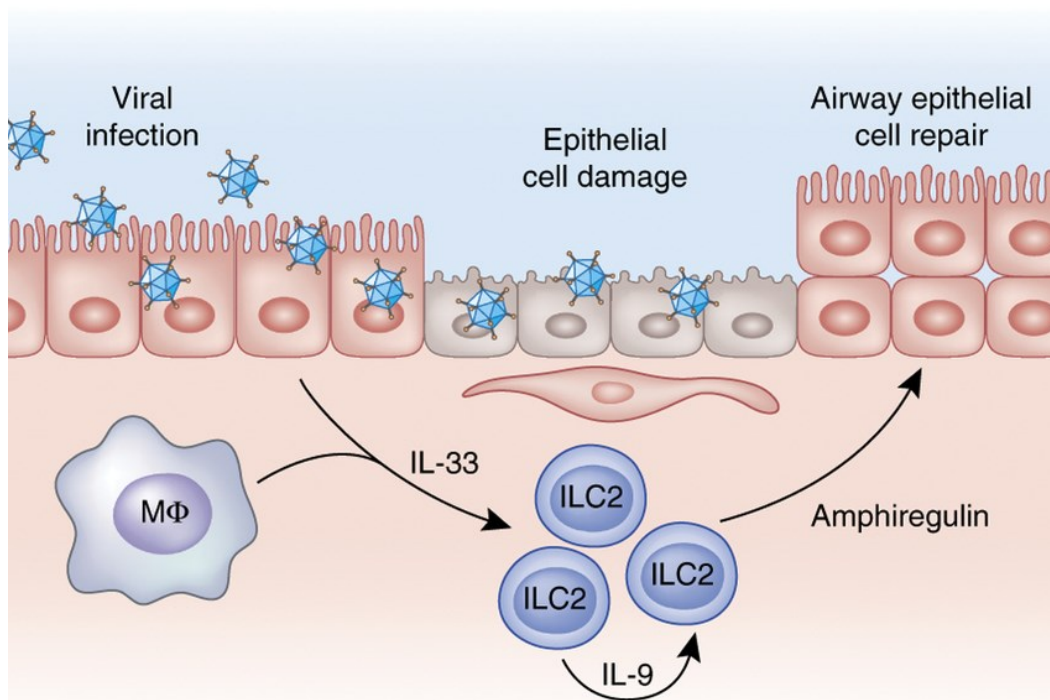
Když se aplikovala vysoká dávka viru a po depleci NK buněk, se zvýšila i šance na přežití. Střední dávka viru (0,5 HAU) po depleci NK buněk šanci snížila (Zhou et al., 2013).

8.4 Role ILC2 při infekci virem chřipky

Mechanismus, spouští astma, stále zůstává slabě probádán. Studie spojitostí mezi virem chřipky a AHR na myším modelu odhalila, že časná fáze IAV infekce aktivuje rezidentní plicní ILC, obzvláště ILC2, které produkcí IL-13 přispějí k hyperplazii dýchacích cest. V nepřítomnosti IL-13 došlo k redukci AHR (Chang et al., 2011).

Monticelli et al. se soustředili na pozdní fázi po IAV infekci a zjistili, že ILC2 neovlivňují schopnost viru množit se a způsobit infekci, ale jejich posláním je udržovat bariéru epitelálních buněk dýchacích cest a obnovovat tkáňovou homeostázi pomocí sekrece amfiregulinu. Kromě indukce akutních zánětlivých odpovědí a aktivování imunity se ILC2 podílejí na řešení zánětu i přímo opravou poškozené tkáně. Tento proces se ukázal nezávislý na IL-13. (Monticelli et al., 2011).

Obecně se má za to, že virové infekce vyvolávají klasické imunitní odpovědi 1. typu, často se ale objevují znaky 2. typu u jedinců, kteří již trpí některým alergickým onemocněním dýchacího traktu. V nedávné studii byly identifikovány ILC2 jako primární zdroj velkého množství IL-5 v reparační fázi po IAV infekci. IL-5 sloužil jako stimul pro postupnou infiltraci a akumulaci eozinofilů v poškozené tkáni.



Obrázek 4: ILC2 a oprava tkáně při zánětu (Sonnenberg a Artis, 2015)

Po virové infekci v plicích jsou epiteliální buňky dýchacích cest poškozeny a ve spojení s rezidentními myeloidními buňkami produkují makrofágy IL-33. Na IL-33 odpovídají ILC2 produkci amfiregulinu, který pomáhá opravit epitely dýchacích cest.

8.5 Role ILC3 při infekci virem chřipky

ILC3 se během IAV infekce nijak zvlášť neuplatňují, ale mohou spíše ovlivnit až sekundární bakteriální infekce, které následují, neboť sliznice poničená virem chřipky usnadňuje adhezi bakterií na její povrch a průchod skrz plicní epitel. Studie Ivanova et al. prokázala, že ILC3 a další $ROR\gamma^+$ buňky ($\alpha\beta$ T lymphocyte, $\gamma\delta$ T lymphocyte, iNKT – invariant natural killer T cell) jsou jedním z hlavních zdrojů IL-22 v časně fázi po IAV infekci. Během letální či subletální infekce nehrál IL-22 žádnou roli v kontrole IAV replikace nebo vývoji specifické $CD8^+$ T buněčné odpovědi proti IAV. Pozitivní efekt IL-22 byl zaznamenán až u sekundárních bakteriálních infekcí následujících po IAV infekci. Myši deficitní na IL-22 vystavené subletální infekci IAV následně hůře kontrolovaly bakteriální replikaci na slizničním povrchu a měly větší problém s udržením plicní epiteliální integrity. U myší, které exprimovaly IL-22 a byly vystaveny bakteriální infekci už třetí den po prodělání IAV infekce se zjistilo, že byly schopny vypořádat se s bakteriemi do 24 hodin. U těch, které byly vystaveny bakteriální infekci až sedmý den po prodělání IAV, se našel vysoký počet živých bakterií v plicích. Ty, které byly infikovány druhý a čtvrtý týden po IAV infekci měly sice nižší počet bakterií, ale

zároveň pro ně bylo obtížnější kontrolovat bakteriální replikaci oproti těm, které byly infikovány sedmý den (Ivanov et al., 2013).

9. Závěr

ILC ve spolupráci s dalšími buňkami významně ovlivňují výsledek infekce virem chřipky. Ačkoliv viry vynalezly rozličné způsoby, jak obejít imunitní systém hostitele, IFN- γ je stále podstatným faktorem v boji proti virovým nákazám. Zdrojem IFN- γ v rámci ILC jsou ILC1 a NK buňky, jeho hlavní funkce spočívá v aktivaci imunitního systému mířeného proti buňkám infikovaným virem. Virus chřipky zhoršuje také průběh astmatu. Plicní ILC2 po stimulaci IL-33 z poškozených buněk a makrofágů začnou sekretovat IL-5 a IL-13. Tyto cytokiny zapříčiňují AHR a akumulaci eozinofilů v poškozené tkáni. Kromě vyvolání akutního zánětu a aktivování imunitní odpovědi dokáží ILC2 pomocí sekrece amfiregulinu přispívat k reparaci poškozené tkáně. O ILC3 neexistuje v souvislosti s virem chřipky mnoho informací. Jejich pozitivní efekt se však uplatňuje v často se vyskytujících sekundárních bakteriálních infekcích následujících po infekci virem chřipky, kdy ILC3 pomocí tvorby IL-22, který je schopen indukovat tvorbu antimikrobiálních peptidů, pomáhali lépe kontrolovat bakteriální replikaci na slizničním povrchu a snadněji udržovali epiteliální integritu.

Virus chřipky je jedním z významných příčin morbidity a mortality, jak u lidí, tak i u zvířat po celém světě. Lepší poznání a porozumění mechanismů specifické i přirozené imunity by mohlo přispět k odvrácení hrozby případných pandemií způsobených mutovaným virem chřipky. Současný výzkum by se proto měl zaměřit na ILC jako na nové hráče na pomezí těchto dvou systémů imunity. Porozumění mechanismu ILC v boji proti virovým infekcím a dalším onemocněním by v budoucnu mohlo vést k zavedení nových terapeutických postupů a k vývoji nových léčiv.

10. Použité zdroje

* Sekundární zdroje jsou označeny hvězdičkou.

- Achdout H, Manaster I, Mandelboim O. (2008). Influenza virus infection augments NK cell inhibition through reorganization of major histocompatibility complex class I proteins. *Journal of Virology*, 82(16), 8030–8037.
- Arnon TI, Lev M, Katz G, Chernobrov Y, Porgador A, Mandelboim O. (2001). Recognition of viral hemagglutinins by NKp44 but not by NKp30. *European Journal of Immunology*, 31(9), 2680–2689.
- Barlow JL, Bellosi A, Hardman CS, Drynan LF, Wong SH, Cruickshank JP, McKenzie AN. (2012). Innate IL-13-producing nuocytes arise during allergic lung inflammation and contribute to airways hyperreactivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(1), 191–198.e4.
- Bartemes KR, Iijima K, Kobayashi T, Kephart GM, McKenzie AN, Kita H. (2012). IL-33-responsive lineage- CD25+ CD44(hi) lymphoid cells mediate innate type 2 immunity and allergic inflammation in the lungs. *Journal of Immunology*, 188(3), 1503–1513.
- Bartemes KR, Kephart GM, Fox SJ, Kita H. (2014). Enhanced innate type 2 immune response in peripheral blood from patients with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(3), 671–678.
- Bergmann M, Garcia-Sastre A, Carnero E, Pehamberger H, Wolff K, Palese P, Muster T. (2000). Influenza virus NS1 protein counteracts PKR-mediated inhibition of replication. *Journal of Virology*, 74(13), 6203–6206.
- Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. (2010). Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature*, 464(7293), 1371–1375.
- Carrega P, Loiacono F, Di Carlo E, Scaramuccia A, Mora M, Conte R, Benelli R, Spaggiari GM, Cantoni C, Campana S, Bonaccorsi I, Morandi B, Truini M, Mingari MC, Moretta L, Ferlazzo G. (2015). NCR(+)ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures. *Nature*, 23(6), 8280.
- Dahl ME, Dabbagh K, Liggitt D, Kim S, Lewis DB. (2004). Viral-induced T helper type 1 responses enhance allergic disease by effects on lung dendritic cells. *Nature Immunology*, 5(3), 337–343.
- De Grove KC, Provoost S, Verhamme FM, Bracke KR, Joos GF, Maes T, Brusselle GG. (2016).

- Characterization and quantification of innate lymphoid cell subsets in human lung. *PloS One*, 11(1), e0145961.
- Eberl G, Marmon S, Sunshine MJ, Rennert PD, Choi Y, Littman DR. (2004). An essential function for the nuclear receptor ROR γ t in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nature Immunology*, 5(1), 64–73.
- * Fuchs A. (2016). ILC1s in tissue inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*, 7, 104.
- * Fuchs A, Colonna M. (2011). Natural killer (NK) and NK-like cells at mucosal epithelia: Mediators of anti-microbial defense and maintenance of tissue integrity. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 1(4), 257–266.
- Gaspal FM, Kim MY, McConnell FM, Raykundalia C, Bekiaris V, Lane PJ. (2005). Mice deficient in OX40 and CD30 signals lack memory antibody responses because of deficient CD4 T cell memory. *Journal Immunology*, 174(7), 3891–3896.
- Gazit R, Gruda R, Elboim M, Arnon TI, Katz G, Achdout H, Hanna J, Qimron U, Landau G, Greenbaum E, Zakay-Rones Z, Porgador A, Mandelboim O. (2006). Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene *Ncr1*. *Nature Immunology*, 7(5), 517–523.
- Geiger TL, Abt MC, Gasteiger G, Firth MA, O'Connor MH, Geary CD, O'Sullivan TE, van den Brink MR, Pamer EG, Hanash AM, Sun JC (2014). *Nfil3* is crucial for development of innate lymphoid cells and host protection against intestinal pathogens. *Journal of Experimental Medicine*, 211(9), 1723–1731.
- Gorski SA, Hahn YS, Braciale TJ. (2013). Group 2 innate lymphoid cell production of IL-5 is regulated by NKT cells during influenza virus infection. *PloS Pathogens*, 9, e1003615.
- Hams E, Armstrong ME, Barlow JL, Saunders SP, Schwartz C, Cooke G, Fahy RJ, Crotty TB, Hirani N, Flynn RJ, Voehringer D, McKenzie AN, Donnelly SC, Fallon PG. (2014). IL-25 and type 2 innate lymphoid cells induce pulmonary fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(1), 367–372.
- Held W, Clevers H, Grosschedl R. (2003). Redundant functions of TCF-1 and LEF-1 during T and NK cell development, but unique role of TCF-1 for Ly49 NK cell receptor acquisition. *European Journal of Immunology*, 33(5), 1393–1398.
- Huang T, Lehmann MJ, Said A, Ma GG, Osterrieder N. (2014). Major histocompatibility complex class I downregulation induced by equine herpesvirus type 1 pUL56 is through dynamin-dependent endocytosis. *Journal of virology*, 88(21), 12802–12815.
- Chang YJ, Kim HY, Albacker LA, Baumgarth N, McKenzie AN, Smith DE, Dekruyff RH, Umetsu DT. (2011). Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-

- reactivity independently of adaptive immunity. *Nature Immunology*, 12(7), 631–638.
- Ivanov S, Renneson J, Fontaine J, Barthelemy A, Paget C, Fernandez EM, Blanc F, De Trez C, Van Maele L, Dumoutier L, Huerre MR, Eberl G, Si-Tahar M, Gosset P, Renauld JC, Sirard JC, Faveeuw C, Trottein F. (2013). Interleukin-22 reduces lung inflammation during influenza A virus infection and protects against secondary bacterial infection. *Journal of Virology*, 87(12), 6911–6924.
- Iyoda T1, Shimoyama S, Liu K, Omatsu Y, Akiyama Y, Maeda Y, Takahara K, Steinman RM, Inaba K. (2002). The CD8⁺ dendritic cell subset selectively endocytoses dying cells in culture and in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 195(10), 1289–1302.
- * Jiang Z, Zhu L. (2016). Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. *Journal of Asthma and Allergy*, 9, 101–107.
- Junqueira-Kipnis AP, Kipnis A, Henao Tamayo M, Harton M, Gonzalez Juarrero M, Basaraba RJ, Orme IM. (2005). Interleukin-10 production by lung macrophages in CBA xid mutant mice infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Immunology*, 115(2), 246–252.
- * Kabata H, Moro K, Koyasu S, Asano K. (2015). Group 2 innate lymphoid cells and asthma. *Allergy International*, 64(3), 227–234.
- Kamizono S, Duncan GS, Seidel MG, Morimoto A, Hamada K, Grosveld G, Akashi K, Lind EF, Haight JP, Ohashi PS, Look AT, Mak TW. (2009). Nfil3/E4bp4 is required for the development and maturation of NK cells in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 206(13), 2977–2986.
- Karupiah G, Xie QW, Buller RM, Nathan C, Duarte C, MacMicking JD. (1993). Inhibition of viral replication by interferon-gamma-induced nitric oxide synthase. *Science*, 261(5127), 1445–1448.
- Klose CSN, Flach M, Möhle L, Rogell L, Hoyler T, Ebert K, Fabiunke C, Pfeifer D, Sexl V, Fonseca-Pereira D, Domingues RG, Veiga-Fernandes H, Arnold SJ, Busslinger M, Dunay IR, Tanriver Y, Diefenbach A. (2014). Differentiation of type 1 ILCs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages. *Cell*, 157(2), 340–356.
- Klose CS, Kiss EA, Schwierzeck V, Ebert K, Hoyler T, d'Hargues Y, Göppert N, Croxford AL, Waisman A, Tanriver Y, Diefenbach A. (2013). A T-bet gradient controls the fate and function of CCR6-ROR γ ⁺ innate lymphoid cells. *Nature*, 494(7436), 261–265.
- Lauzon W, Lemaire I. (1994). Alveolar macrophage inhibition of lung-associated NK activity: involvement of prostaglandins and transforming growth factor-beta 1. *Experimental Lung Research*, 20(4), 331–349.
- Lee JE, Lim SA, Kim TJ, Kim K, Ng J, Kim YH, Jang IJ, Oh SB, Lee JC, Yee C, Kumar V,

- Lee KM. (2014). NKG2D ligation relieves 2B4-mediated NK-cell self-tolerance in mice. *European Journal of Immunology*, 44(6), 1802–1813.
- * Lim AW, McKenzie AN. (2015). Deciphering the transcriptional switches of innate lymphoid cell programming: the right factors at the right time. *Genes and Immunity*, 16(3), 177–186.
- Martin-Fontecha A1, Thomsen LL, Brett S, Gerard C, Lipp M, Lanzavecchia A, Sallusto F. (2004). Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN- γ for TH1 priming. *Nature Immunology*, 5(12), 1260–1265.
- * Martinez-Gonzalez I, Steer CA, Takei F. (2015). Lung ILC2s link innate and adaptive responses in allergic inflammation. *Trends in Immunology*, 36(3), 189–195.
- Mebius RE, Rennert P, Weissman IL. (1997). Developing lymph nodes collect CD4+CD3-LTbeta+ cells that can differentiate to APC, NK cells, and follicular cells but not T or B cells. *Immunity*, 7(4), 493–504.
- Mielke LA, Groom JR, Rankin LC, Seillet C, Masson F, Putoczki T, Belz GT. (2013). TCF-1 controls ILC2 and NKp46+ROR γ t+ innate lymphocyte differentiation and protection in intestinal inflammation. *Journal of Immunology*, 191(8), 4383–4391.
- Mirchandani AS, Besnard AG, Yip E, Scott C, Bain CC, Cerovic V, Salmond RJ, Liew FY. (2014). Type 2 innate lymphoid cells drive CD4+ Th2 cell responses. *The Journal Immunology*, 192(5), 2442–2448.
- Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, Alenghat T, Ziegler CG, Doering TA, Angelosanto JM, Laidlaw BJ, Yang CY, Sathaliyawala T, Kubota M, Turner D, Diamond JM, Goldrath AW, Farber DL, Collman RG, Wherry EJ, Artis D. (2011). Innate lymphoid cells promote lung tissue homeostasis following acute influenza virus infection. *Nature Immunology*, 12(11), 1045–1054.
- Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, Furusawa J, Ohtani M, Fujii H, Koyasu S. (2010). Innate production of TH2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit+Sca-1+ lymphoid cells. *Nature*, 463(7280), 540–544.
- Mortha A, Chudnovskiy A, Hashimoto D, Bogunovic M, Spencer SP, Belkaid Y, Merad M. (2014). Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science*, 343, 1439–1440.
- Muhlethaler-Mottet A, Di Berardino W, Otten LA, Mach B. (1998). Activation of the MHC class II transactivator CIITA by interferon-gamma requires cooperative interaction between Stat1 and USF-1. *Immunity*, 8(2), 157–166.
- Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, Bucks C, Kane CM, Fallon

- PG, Pannell R, Jolin HE, McKenzie AN. (2010). Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature*, 464(7293), 1367–1370.
- Ngo VN, Korner H, Gunn MD, Schmidt KN, Riminton DS, Cooper MD, Browning JL, Sedgwick JD, Cyster JG. (1999). Lymphotoxin alpha/beta and tumor necrosis factor are required for stromal cell expression of homing chemokines in B and T cell areas of the spleen. *The Journal of Experimental Medicine*, 189(2), 403–412.
- Mandelboim O, Lieberman N, Lev M, Paul L, Arnon TI, Bushkin Y, Davis DM, Strominger JL, Yewdell JW, Porgador A. (2001). Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells. *Nature*, 409(6823), 1055–1060.
- Oliphant CJ, Hwang YY, Walker JA, Salimi M, Wong SH, Brewer JM, Englezakis A, Barlow JL, Hams E, Scanlon ST, Ogg GS, Fallon PG, McKenzie AN. (2014). MHCII-mediated dialog between group 2 innate lymphoid cells and CD4(+) T cells potentiates type 2 immunity and promotes parasitic helminth expulsion. *Immunity*, 41(2), 283–295.
- Prabhu N, Ho AW, Wong KH, Hutchinson PE, Chua YL, Kandasamy M, Lee DC, Sivasankar B, Kemeny DM. (2013). Gamma interferon regulates contraction of the influenza virus-specific CD8 T cell response and limits the size of the memory population. *Journal of Virology*, 87(23), 12510–12522.
- Price AE, Liang HE, Sullivan BM, Reinhardt RL, Eisle CJ, Erle DJ, Locksley RM. (2010). Systemically dispersed innate IL-13-expressing cells in type 2 immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(25), 11489–11494.
- Rigas D, Lewis G, Aron JL, Wang B, Banie H, Sankaranarayanan I, Galle-Treger L, Maazi H, Lo R, Freeman GJ, Sharpe AH, Soroosh P, Akbari O. (2017). Type 2 innate lymphoid cell suppression by regulatory T cells attenuates airway hyperreactivity and requires inducible T-cell costimulator–inducible T-cell costimulator ligand interaction. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(5), 1468–1477.
- Romanet-Manent S, Charpin D, Magnan A, Lanteaume A, Vervloet D; EGEA Cooperative Group. (2002). Allergic vs nonallergic asthma: what makes the difference?. *Allergy*, 57(7), 607–613.
- Satoh-Takayama N, Voshchenrich CA, Lesjean-Pottier S, Sawa S, Lochner M, Rattis F, Mention JJ, Thiam K, Cerf-Bensussan N, Mandelboim O, Eberl G, Di Santo JP. (2008). Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46+ cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity*, 29(6), 958–970.
- Scandella E, Bolinger B, Lattmann E, Miller S, Favre S, Littman DR, Finke D, Luther SA, Junt

- T, Ludewig B. (2008). Restoration of lymphoid organ integrity through the interaction of lymphoid tissue – inducer cells with stroma of the T cell zone. *Nature Immunology*, 9(6), 667–675.
- Seehus CR, Aliahmad P, de la Torre B, Iliev ID, Spurka L, Funari VA, Kaye J. (2015). The development of innate lymphoid cells requires TOX-dependent generation of a common innate lymphoid cell progenitor. *Nature Immunology*, 16(6), 599–608.
- Seillet C, Belz GT, Huntington ND. (2016). Development, Homeostasis, and Heterogeneity of NK Cells and ILC1. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 359, 37–61.
- Seillet C, Rankin LC, Groom JR, Mielke LA, Tellier J, Chopin M, Huntington ND, Belz GT, Carotta S. (2014). Nfil3 is required for the development of all innate lymphoid cell subsets. *The Journal of Experimental Medicine*, 211(9), 1733–1740.
- * Serafini N, Vosshenrich CA, Di Santo JP. (2015). Transcriptional regulation of innate lymphoid cell fate. *Nature Reviews Immunology*, 15(7), 415–428.
- Schuster IS, Wikstrom ME, Brizard G, Coudert JD, Estcourt MJ, Manzur M, O'Reilly LA, Smyth MJ, Trapani JA, Hill GR, Andoniu CE, Degli-Esposti MA. (2014). TRAIL+ NK cells control CD4+ T cell responses during chronic viral infection to limit autoimmunity. *Immunity*, 41(4), 646–656.
- * Spits H, Di Santo JP. (2011). The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nature Immunology*, 12(1), 21–27.
- * Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, Koyasu S, Locksley RM, McKenzie AN, Mebius RE, Powrie F, Vivier E. (2013). Innate lymphoid cells: a proposal for uniform nomenclature. *Nature Reviews Immunology*, 13(2), 145–149.
- * Spits H, Cupedo T. (2012). Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annual Review of Immunology*, 30(1), 647–675.
- Takatori H, Kanno Y, Watford WT, Tato CM, Weiss G, Ivanov II, Littman DR, O'Shea JJ. (2009). Lymphoid tissue inducer-like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *The Journal of Experimental Medicine*, 206(1), 35–41.
- Takei Y, Sims TN, Urmson J, Halloran PF. (2000). Central role for interferon- γ receptor in the regulation of renal MHC expression. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11(2), 250–261.
- Taube C, Tertilt C, Gyölvézi G, Dehzad N, Kreymborg K, Schneeweiss K, Michel E, Reuter S, Renauld JC, Arnold-Schild D, Schild H, Buhl R, Becher B. (2011). IL-22 is produced by innate lymphoid cells and limits inflammation in allergic airway disease. *PloS One*, 6(7), e21799.

- Ting CN, Olson MC, Barton KP, Leiden JM. (1996). Transcription factor GATA-3 is required for development of the T-cell lineage. *Nature*, 384(6608), 474–478.
- Turner JE, Morrison PJ, Wilhelm C, Wilson M, Ahlfors H, Renauld JC, Panzer U, Helmby H, Stockinger B. (2013). IL-9 – mediated survival of type 2 innate lymphoid cells promotes damage control in helminth-induced lung inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, 210(13), 2951–2965.
- von Burg N, Chappaz S, Baerenwaldt A, Horvath E, Bose Dasgupta S, Ashok D, Pieters J, Tacchini-Cottier F, Rolink A, Acha-Orbea H, Finke D. (2014). Activated group 3 innate lymphoid cells promote T-cell-mediated immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(35), 12835–12840.
- * von Burg N, Turchinovich G, Finke D. (2015) Maintenance of immune homeostasis through ILC/T cell interactions. *Frontiers in Immunology*, 6, 416.
- Waggoner SN, Cornberg M, Selin LK, Welsh RM. (2013). Natural killer cells act as rheostats modulating anti-viral T cells. *Nature*, 481(7381), 394–398.
- Wang J, Li F, Zheng M, Sun R, Wei H, Tian Z. (2012). Lung natural killer cells in mice: phenotype and response to respiratory infection. *Immunology*, 137(1), 37–47.
- Weber BN, Chi AW, Chavez A, Yashiro-Ohtani Y, Yang Q, Shestova O, Bhandoola A. (2011). A critical role for TCF-1 in T-lineage specification and differentiation. *Nature*, 476(7358), 63–68.
- Xu W, Domingues RG, Fonseca-Pereira D, Ferreira M, Ribeiro H, Lopez-Lastra S, Motomura Y, Moreira-Santos L, Bihl F, Braud V, Kee B, Brady H, Coles MC, Vosshenrich C, Kubo M, Di Santo JP, Veiga-Fernandes H. (2015). NFIL3 orchestrates the emergence of common helper innate lymphoid cell precursors. *Cell Reports*, 10(12), 2044–2054.
- Yagi R, Zhong C, Northrup DL, Yu F, Bouladoux N, Spencer S, Hu G, Barron L, Sharma S, Nakayama T, Belkaid Y, Zhao K, Zhu J. (2014). The transcription factor GATA3 is critical for the development of all IL-7R α -expressing innate lymphoid cells. *Immunity*, 40(3), 378–388.
- Yokota Y, Mansouri A, Mori S, Sugawara S, Adachi S, Nishikawa S, Gruss P. (1999). Development of peripheral lymphoid organs and natural killer cells depends on the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Nature*, 397(6721), 702–706.
- Yu X, Wang Y, Deng M, Li Y, Ruhn KA, Zhang CC, Hooper LV. (2014). The basic leucine zipper transcription factor NFIL3 directs the development of a common innate lymphoid cell precursor. *eLife*, 3, e04406.
- * Zhang LJ, Gallo RL. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19.

Zhou G, Juang SW, Kane KP. (2013). NK cells exacerbate the pathology of influenza virus infection in mice. *European Journal of Immunology*, 43(4), 929–938.

Internetové zdroje

World Health Organization [online]. 2014 [cit. 2017-08-10]. Influenza virus infections in humans (February 2014). Dostupné z: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/influenza_virus_infections_humans_feb14.pdf?ua=1

Obrázky

- * Björkström NK, Kekäläinen E, Mjösberg J. (2013). Tissue-specific effector functions of innate lymphoid cells. *Immunology*, 139(4), 416–427.
- * Lambrecht BN, Hammad H. (2015). The immunology of asthma. *Nature Immunology*, 16(1), 45–56.
- * Sonnenberg GF, Artis D (2015). Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation. *Nature Medicine*, 21(7), 698–708.